Aus dem Hygienischen Institut der Philipps-Universität, Marburg a. d. Lahn.
Direktor: Professor Dr. W. Pfannenstiel.

Untersuchungen über die Variabilität des Streptococcus agalactiae und des Streptococcus lacticus.

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde in der Medizin
der
Hohen Medizinischen Fakultät der Philipps-Universität
in Marburg.

Vorgelegt von
Hermann Urbahn
Medizinalpraktikant
aus Lünen i. Westf.

Marburg 1933.

Druckerei Jul. Schmidt, Dortmund-Hörde, Piepenstockstr. 19 Ruf 41970.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
in Marburg am 22. 12. 1933.
Gedruckt mit der Genehmigung der Fakultät.

Gutachter:

Professor Dr. W. Pfannenstiel.

Für die Eutererkrankungen des Rindes kommen in erster Linie Streptokokken als Erreger in Betracht. Diese in der Form des Streptococcus agalactiae, erzeugen eine chronische, eitrige Mastitis, den sogenannten gelben Galt, der nach neuen Untersuchungen außerordentlich verbreitet und vorläufig noch praktisch unheilbar ist. Der durch diese Erkrankung der Milchwirtschaft zugefügte Schaden ist ungeheuer groß, er beginnt aber erst jetzt in seinem ganzen Umfange erkannt zu werden, seit die Milchwirtschaft den Schädlingen der Tierproduktion und Nutzung unter dem Druck größter Wirtschaftsnöte vermehrtes Augenmerk schenkt und sich von der seuchenhaften Ausbreitung dieses ansteckenden, schleichend verlaufenden Leidens überzeugt hat. Das Milchergebnis ist bei den erkrankten Kühen stark vermindert, und der daraus entstehende Schaden kann in einzelnen Betrieben zu einem Rückgang der Milchproduktion bis zu 50% führen. (G r e n z ,) (1). E r n s t (2) und andere schätzen etwa 20% aller Kühe in Deutschland als an „gelbem Galt" erkrankt. Zu dieser großen Verbreitung trägt zweifellos weiter bei, daß viele Kühe, ohne klinische Symptome zu zeigen, die Erreger in den Ausführungsgängen ihrer Milchdrüsen beherbergen und mit der Milch ausscheiden, also Bazillenträger sind. Solche Kühe sind entweder reine Streptokokkenträger, die niemals Krankheitserscheinungen gehabt haben, oder sie haben eine Streptokokkenmastitis überstanden und scheiden nur noch Streptokokken aus, oder aber sie befinden sich im Inkubationsstadium.

Bis heute ist es nicht entschieden, ob es nun verschiedene Arten dieser Mastitisstreptokokken mit verschiedenen Graden der Virulenz und Pathogenität gibt. Obwohl es möglich ist nach den vielen älteren Untersuchungen, den Streptococcus agalactiae von den gewöhnlichen Milchsäurestreptokokken hinreichend genau morphologisch und biologisch abzugrenzen, kommt es doch immer wieder vor, daß einerseits bei den Milch-

untersuchungen gesunder Kühe Kokken nachweisbar sind, die alle die Eigenschaften des Streptococcus agalactiae aufweisen, andererseits selbst bei makroskopisch-pathologisch veränderter Milch galtkranker Kühe der Galtstreptokokkus nicht immer in langen und mittellangen Ketten gefunden wird, sondern es kommen auch ganz kurze Ketten, oft auch nur Diplokokken vor, bei denen die Staketform nicht ausgeprägt ist, und die deshalb zur Verwechselung mit dem Streptococcus lacticus führen können. Erst nach gelungener Vorkultur auf entsprechenden Nährböden wachsen in Bouillon längere Ketten heran, welche die typische Staketform zeigen. Nicht selten ließ sich auch beobachten, daß die Milch von Kühen kurz vor dem Trockengestelltwerden Galtstreptokokken enthielt, nach dem Abkalben aber keine typischen Galtstreptokokken mehr, sondern nur noch zahlreiche Uebergangsformen, die nicht mehr alle die den Streptococcus agalactiae charakterisierenden morphologischen und biologischen Eigenschaften aufwiesen. Diese Beobachtungen, die bei den am hiesigen Hygienischen Institut durchgeführten Milchuntersuchungen wiederholt gemacht worden waren, und bei denen in Milchproben von Vorzugsmilchkühen Galtstreptokokken nachgewiesen wurden, ohne daß eine Veränderung der Milch, noch klinische Symptome bei den Tieren festgestellt werden konnten, gaben den Anlaß zu nachfolgender Arbeit. Vor allem erschien es von Bedeutung, die Frage zu klären, ob der Streptococcus agalatiae ähnlich anderen Streptokokkenarten Abwandlungen erfahren kann, die ihn völlig mit einer avirulenten Kokkenart, den Milchsäurestreptokokken, Enterokokken usw. identisch werden lassen.

Trotz der Fülle der Aufzeichnungen über den Erreger der Streptokokkenmastitis hat sich über eine etwaige Variabilität dieser Keimart keine Einigung erzielen lassen. Die älteren Arbeiten, in denen eine noch heute anerkannte Charakterisierung der morphologischen Merkmale des Streptococcus agalactiae gegeben wurde, lassen meist die Frage nach einer Variabilität des Erregers noch offen, da sie in erster Linie die Möglichkeit einer Diagnose des gelben Galt durch das morphologische Bild Ziele hatten. An der Querstellung der Teilglieder, an der kapselähnlichen Umhüllung u. a. kann man Galtstreptokokken erkennen und von anderen Streptokokkenarten unterscheiden. Ernst (2) fügt dieser Charakteristik allerdings hinzu, daß die genannten Eigenschaften nicht immer allein genügen würden, um mit Sicherheit die Diagnose „Galt" zu stellen. Auf Grund des morphologischen Bildes unterscheidet Zschokke (3) 3 Formen.

Der ersten Form liegt eine Infektion mit kurzgliedrigen, der zweiten eine Infektion mit langgliedrigen, der dritten eine mit feingliedrigen Streptokokken zu Grunde. Die beiden ersten Formen zeigen das Krankheitsbild des „gelben Galts", dagegen zeigt die dritte Form nur einen leichten, rasch ausheilenden Euterkatarrh.

Rudolf (4) gibt an, nur bei Färbung mit Methylenblau auf Grund des morphologischen Bildes allein mit Sicherheit Galtstreptokokken zu erkennen (Staketform). Ein großer Teil der älteren Arbeiten macht jedoch bereits auf die Schwierigkeiten einer genauen Abgrenzung des Streptococcus agalactiae von dem Milchsäurestreptokokkus aufmerksam. Es wird darauf hingewiesen, daß es zwischen langen und kurzen Strektokokkenketten zahlreiche Zwischenstufen gibt, die alle nur in Wachstum, Biologie und Pathogenität kleine Differenzen zeigen (Kitt) (5), und daß daher eine absolute Trennung von Milchsäurestreptokokken unmöglich sei, da viele Uebergangsformen von einer Art in die andere vorkommen. Löhnis (6) unterscheidet nach Milchkoagulation vier Typen: 1. Str. mastitis, 2. Str. Güntheri, 3. Str. Kefir und 4. den Str. mucosus.

Gminder (7) hält eine morphologische Trennung von pathogenen und saprophytischen Streptokokken nicht oder nur dann für möglich, wenn es sich um steril entnommene Milch handelt.

Aber auch die Anwendung biologischer Prüfungsmethoden wie die Vergärungsfähigkeit verschiedener Zuckerarten, das biochemische Verhalten, die Untersuchung auf Haemolyse, mindern wohl die Schwierigkeiten einer klaren und sicheren Diagnose, mit Sicherheit kann man bei ihrer Verwendung Galtstreptokokken jedoch auch nicht von Milchsäurestreptokokken trennen. Zwar empfehlen Rudolf (4) und Grenz (1) die Heim'sche Lackmusmilch als ein ausgezeichnetes Differenzierungsmittel zwischen den Galt- und Milchsäurestreptokokken, aber auch sie müssen zugeben, daà es zweifellos viele Zwischenstufen gibt. Nach diesen Untersuchungen rötet der Streptococcus agalactiae die Lackmusmilch bei 37° innerhalb von 24 Stunden und bringt diesen Nährboden in 24—48 Stunden zur Gerinnung. Die im weiteren Verlauf eintretende Entfärbung beginnt am Boden des Röhrchens und steigt schnell aufwärts. Im Gegensatz hierzu entfärbt der Streptococcus lacticus die Lackmusmilch bei 37° innerhalb von 24 Stunden stets vollständig. Die bei weiterem Wachstum eintretende Rötung beginnt immer von oben und schreitet bodenwärts. Eine Gerin-

nung der Milch tritt in 24—48 Stunden ein. Die Rißbildung im Nährboden ist nicht als Unterscheidungsmerkmal der beiden Streptokokkenarten anzusehen. Hammer (8) unterscheidet zwei verschiedene Typen des Streptococcus lacticus, die namentlich bezüglich ihres Wachstums in Lackmusmilch (Reduktion) gewisse Unterschiede zeigen. In morphologischer Hinsicht kann er keine Verschiedenheiten feststellen. Beide Keimarten zeigen im allgemeinen Ketten, und zwar in jüngeren Kulturen längere als in älteren.

Bezüglich der Vergärungsverhältnisse für verschiedene Zukkerarten gehen die Ergebnisse ebenfalls sehr auseinander. Die amerikanischen Autoren sind der Ansicht, daß die Eigenschaft, Saccharose zu vergären, nur den pathogenen Stämmen und nicht den typischen apathogenen Milchsäurestreptokokkus zukomme. An einer Reihe von Galtstämmen hat Meylbo (9) eine Differenzierung auf 28 verschiedenen kohlenhydrathaltigen, flüssigen Nährböden versucht, und dadurch 25 Typen, die sich in 8 Gruppen zusammenfassen ließen, herausgefunden, ein Beweis, wie verschiedenartig sich diese Mikroorganismen verhalten können. Zur Unterscheidung der in der Milch vorkommenden Streptokokken kann man mit Hilfe eines Saccharose- Serum- Albuminat- Agarnährbodens gute Ergebnisse erzielen, besonders dann, wenn man zur näheren Differenzierung der Lacticusstämme, die Saccharosespaltung zeigen, Raffinose anwendet, da Galtstreptokokken Raffinose nicht spalten. (Klimmer und Haupt) (10).

Die übliche Untersuchung auf haemolytische Fähigkeit wird von vielen Untersuchern als Unterscheidungsmerkmal abgelehnt (Schlesinger (11), Gminder (7), Frost (12) und Bachmann (12) schon deshalb, weil es unter den pathogenen Mastitisstreptokokken — ganz ähnlich wie bei den menschenpathogenen Streptokokken — sicherlich sehr viele nichthaemolysierende gibt. So gelang es Baumann (14), aus Milch eine Anzahl von Streptokokkenstämmen zu züchten, die deutlich einen haemolytischen Hof auf der Blutplatte zeigten, dagegen konnte Laabs (15) keine Haemolyse bei seinen Versuchen feststellen.

Die Schwierigkeiten einer genauen Abgrenzung von Streptococcus agalactiae und Streptococcus lacticus werden verständlich, wenn nun noch jene Formveränderungen von Milchsäurestreptokokken in der Kultur herangezogen werden, über die bisher Berichte vorliegen. Bei einigen älteren Kulturen beobachteten Klimmer und Haupt (10) diphteroide Stäbchen in großer Anzahl, teilweise auch nur Stäbchen. Sie sind einer eingehenden bakteriologischen Untersuchung nicht näher getreten,

auch eine Bestätigung dieses Befundes ist in späteren Arbeiten nicht zu finden.

Entgegen den Vermutungen, daß die Euter-Corynebakterien nur Wuchsformen von Streptococcus lacticus sind, muß festgestellt werden, daß es sich hier um echte Corynebakterien handelt. Sie stellen eine sehr charakteristische Gruppe dar, die zu den häufigsten Bewohnern des normalen Kuheuters gehören. Es sind längliche, häufig gekrümmte Stäbchen mit großen Keulen und kurzen Verzweigungen. Ihr Wachstum ist langsam, Kohlehydrate werden nicht angegriffen (S t e c k , 16). Ihre Fähigkeit, heftige entzündliche Prozesse, denen die Streptokokken erliegen, zu überstehen, hat zu der Ansicht geführt, daß sie andere Wuchsformen der Streptokokken seien, oder daß die Ansiedlung von Corynebakterien im Euter durch das Ueberstehen einer Streptokokkeninfektion bedingt und dafür geradezu charakteristisch sei. Diese Auffassungen sind irrig, auch hat sich die Vermutung, daß die von K l i m m e r und H a u p t (10) angegebenen Stäbchen mit den Euter-Corynebakterien identisch wären, als unrichtig erwiesen. Nach S t e c k (16) treten sie infolge ihres langsamen und dürftigeren Wachstums auf künstlichen Nährböden erst dann in Erscheinung, wenn sie fast allein im Euter vorhanden sind.

Bei längerer Züchtung und Ueberimpfung der Milchsäurestreptokokken in Bouillon zeigen sich Modifikationen, die in der Milch sehr wenig Säure bilden und sie nicht mehr koagulieren. (B u j w i d , 17). Nach etwa 50 Generationen in Milch werden die Ketten wieder länger und die Kulturen üppiger.

Es fehlt im Schrifttum nun nicht an Arbeiten, die darauf hinweisen, daß die Enterokokken mit den Milchsäurestreptokokken identisch seien, jedenfalls ist die Grenze zwischen Enterokokken und Milchsäurestreptokokken nicht unbedingt sicher zu ziehen. H ü t t i g , 18 — D e m e t e r , 19 — und A s s h o f f , 30). Der Streptococcus lacticus erscheint in seiner typischen Form nur an Orten der Milchgewinnung und -Verarbeitung, in Milcherzeugnissen (saure und Yoghurt-Milch), der Enterokokkus in menschlichen und tierischen Exkrementen. Beide verhalten sich bezüglich ihrer bakteriologischen und chemisch-biologischen Eigenschaften so gut wie gleich. Durch die verschiedenen Standortsverhältnisse und Wachstumsbedingungen können die geringen Unterschiede im kulturellen und biologischen Verhalten leicht geklärt werden.

G u n d e l (20) kommt auf Grund seiner Untersuchungen zu folgenden Ergebnissen: Findet man Enterokokken als Erreger

bestimmter Erkrankungen, so handelt es sich um eine für Menschen pathogene Variante der Milchsäurestreptokokken. Eine Abtrennung dieser Keime von den Milchsäurestreptokokken der Mundhöhle, des Darmtraktus oder des uronetischen Systems auf Grund biologischer oder morphologischer Charakteristik ist unmöglich.

Die Frage, ob Milchsäurestreptokokken galtähnliche Prozesse im Euter hervorrufen und somit Anlaß zu einer Verwechslung geben könnten, ist wiederholt bearbeitet worden, ohne jedoch zu einem endgültigen Ergebnis geführt zu haben. Auf Grund des Verhaltens verschiedener Lacticusstämme, die aus dem Kuhstall, aus dem Eutersekret kranker Rinder und aus pathologischen Prozessen des Kalbes, Rindes und Schweines gewonnen und isoliert werden, wird die Ansicht vertreten, daß unter Umständen durch Virulenzsteigerung der Streptococcus lacticus imstande sein dürfte, auch Eutererkrankungen ähnlich denen des „gelben Galt's" hervorzurufen. (Rudolf (4), v. Sande (21), Bischof (22), u. a.).

Die außerordentliche Verschiedenheit der Befunde der einzelnen Untersucher mag die Schwierigkeiten beleuchten, die einer Klärung dieses Problems gegenüberstehen. Abgesehen davon, daß bisher (nach Diernhofer) (23) alle therapeutischen Maßnahmen, chemotherapeutische Beeinflussung, Autovaccine, Yatrentherapie (Bischoff, 22) gescheitert sind, gibt sowohl die große Verbreitung des gelben Galt als auch die noch ungeklärte Frage einer etwaigen Pathogenität der Galtstreptokokken für den Menschen, besonders für den Säugling, allen Grund, der Frage der Veränderlichkeit der Milchstreptokokken nachzugehen. Gerade die neuen Arbeiten über Veränderungen von Streptokokken gaben den Anlaß zu einer Untersuchung, ob sich auch experimentell bei Galt- und Milchsäurestreptokokken derartige Umwandlungen durch Standortbeeinflussung erzielen lassen. Pfannenstiel (24) berichtet zusammen mit Eichhoff (24), daß Enterokokken bei Züchtung auf sauren Nährböden ihres Aeskulinspaltungsvermögens, ihrer Thermo- und Galleresistenz verlustig gehen können, während sich bei Züchtung auf alkalischen Nährböden ein Wiederauftreten dieser verlorengegangenen Eigenschaften erzielen ließ. Braun (25) hat neuerdings diese Ergebnisse im wesentlichen bestätigt und weitere Veränderungen verschiedener Streptokokkenarten beschrieben, die regelmäßig beobachtet wurden, wenn als Nährmedium steriler Urin diente. Die haemolytischen Streptokokken verloren nach Züchtung im Urin ihr Blutauflösungsvermögen, die

Ketten wurden kleiner, und es traten überwiegend Diplokokkenformen auf. Die Lackmusmilch wurde stark gerötet, ebenso zeigten sie in der Galle — Lachmus — Milchzuckerbouillon das für Enterokokken typische Verhalten, nämlich starke Rötung und Trübung des Nährbodens. Die Fähigkeit, Aeskulin zu spalten, konnte in allen Fällen nach Passagen in Urin nachgewiesen werden. Auch die geprüften Pneumokokken- und vergrünenden Mundhöhlenstreptokokkenstämme sowie ein Streptococcus viridans-Stamm zeigten nach den Urinpassagen das typische Verhalten von Enterokokken. Alle diese Stämme färbten schließlich die Lackmusmilch rot und erwarben Aeskulinspaltungsvermögen.

Auch bei den Galt- und Milchsäurestreptokokken sind zahlreiche Varietäten beschrieben worden (Rudolf (4), Sande (21), Bischoff (22) u. a.), aber in allen diesen Arbeiten, wie ja auch bei den Versuchen von Braun (25) handelt es sich um Streptokokkenarten, die von verschiedenen Standorten stammten, und die den jeweils gleichen veränderten Wachstumsbedingungen längere Zeit ausgesetzt waren. Demgegenüber versuchte ich zu ergründen, ob Galt- und Milchsäurestreptokokken, die vom gleichen Standort stammten, nämlich aus dem Kuheuter beziehungsweise der Kuhmilch, unter verschiedenen Wachstumsbedingungen Abwandlungen erfahren können. Aehnlich den erwähnten Versuchen von Braun (25) kam es darauf an, zuerst Verschiedenheiten im allgemein biologischen Verhalten aufzufinden, insbesondere welche Wirkungen eine verschiedenartige Wasserstoffionenkonzentration auf das Wachstum ausübt. Sodann sollte die Frage geprüft werden, ob Veränderungen unter besonderen Wachstumsbedingungen, z. B. nach Züchtung in Urin, in gallehaltigen Nährböden oder bei anaeroben Verhältnissen auftreten. Als Beitrag zur Frage der verschiedenartigen Pathogenität der Galt- und Milchsäurestreptokokken beobachtete ich schließlich in Ergänzung der Dold'schen (26) Untersuchungen das Verhalten der Galt- und Milchsäurestreptokokken bei intrakutaner Injektion in die Kaninchenhaut.

Eigene Versuche.

Die Untersuchung wurde an zehn Galtstämmen durchgeführt, von denen drei Stämme (Nr. 22, 12 und 108) aus dem Milchwirtschaftlichen Forschungsinstitut Kiel (Prof. Dr. Henneberg),

die übrigen von galtkranken Kühen (Viertelmilchproben) des Untersuchungsmaterials stammten. Daneben wurden zehn Lacticusstämme geprüft, von denen neun aus denselben Ställen, z. T. aus denselben Viertelmilchproben herrührten, aus denen auch die Galtstämme isoliert worden waren. Der zehnte Stamm war ein Sammlungsstamm des Instituts. Mit Hilfe der verschiedenen Nährböden wurden die einzelnen Stämme auf ihre Echtheit geprüft. Zu meinen Versuchen habe ich nur diejenigen Stämme verwandt, die in allen Reaktionen morphologisch, kulturell und biochemisch sich gelichartig verhielten. (S. Tabelle 1).

Gewinn der Reinkulturen.

Zur Isolierung der Galt- und Milchsäurestreptokokkenstämme erwies sich der von Klimmer und Haupt (10) angegebene Saccharose — Serum — Alkali — Albuminat — Agar als sehr brauchbar. Nachdem durch wiederholtes Ueberimpfen einzelner als Streptococcus agalactiae diagnostizierter Kolonien ein Stamm aus dem Material, meist Viertelsmilchproben, herausgezüchtet war, wurde dieser auf sein Verhalten in Lackmusmilch, Methylenblaumilch, sowie in Galle- Lackmus- Milchzuckerbouillon und in der von Seelemann angegebenen Laktosebouillon untersucht. Außer diesen Reaktionen benutzte ich noch den polytropen Nährboden nach Lange, in dem nach den Angaben von Jusatz (unveröffentlichte Mitteilungen) Streptococcus agalactiae unter intensiver Rötung der Nährflüssigkeit gutes Wachstum zeigt.

Charakteristik der Galtstreptokokken.

Der Galtstreptokokkus ist vornehmlich durch folgende Eigenschaften charakterisiert: Auf der Saccharoseplatte fand ich nach 24 Stunden dunkelbraungelbe Kolonien. Der Nährboden um die Kolonien und deren Bereich ist gelbgefärbt. Die Gelbfärbung diffundiert sehr stark in die Umgebung der Kolonien. Die Kolonien sind flach und zart, und je dichter sie sind, desto kleiner sind sie. Größere Kolonien zeigen in ihrer Mitte einen deutlich erhabenen und unklar erscheinenden Mittelpunkt.

Lackmusmilch wird bei 37° in 24 Stunden zu einem festen Gerinsel. Methylenblaumilch wird selbst nach tagelangem Stehen nicht verändert. Die polytrope Bouillon nach Lange wird nach 24 Stunden intensiv gerötet, ebenso wies die Galle- Lackmus-Bouillon nach 24 Stunden einen Farbumschlag nach rot auf. Bei keinem einzigen der zehn Galtstämme wurde Aeskulinspaltung beobachtet. Die Laktosebouillon erwies sich nach 24 Stun-

Tabelle I

Typisches Verhalten:

		Str. lacticus:			Str. agalactiae:
Morphol. Verhalten		lanzettförmige Diplokokken.			Staketförmig angeordnete lange Ketten.
Kulturelles Verhalten	a) auf festen Nährböden	Typ I (nach Lehmann-Neumann): Große weiße erhabene saftige Kolonien	Typ II: Flache Kolonien (Größe wechselnd)	Typ III: Große runde, den Nährboden aufhellende Kolonien	kleine runde, meist flache Kolonien. Auf der Saccharoseplatte (nach Klimmer, 10a): In der Mitte ein etwas dunkel braun erhabenes Zentrum, das dunkler erscheint
	b) in flüssigen Nährböden.	Im Ganzen Bouillon getrübt mit knopfförmigem Bodensatz			Bouillon klar, massiger, geballter Bodensatz, der sich beim Aufschütteln zopfartig erhebt.
Biochemisches Verhalten	a) in Lackmusmilch	Entfärbung: Elfenbeinfarbe, Rötung von oben nach unten, Gerinnung nach 24 Std.	weißlich bläulich von oben nach unten fortschreitend, gerinnt später.	Rötung, **keine** Gerinnung.	in 24 Std. Rötung u. Gerinnung. Streifenbildung von oben nach unten. Später rosa von unten nach oben fortschreitend.
	b) in Methylenblaumilch	In 24 Stunden geronnen und entfärbt (weiß)			unverändert (hellblau, kein Wachstum)
	c) Zuckervergärung. 1) Lactose:	pos.			pos.
	2) Saccharose:	neg. und pos.			pos.
	3) Raffinose	pos.			neg.
	4) Dulcit	pos.			neg.

den klar und zeigte einen starken Bodenansatz in Form eines großen zusammenhängenden Ballens. Oftmals gelang es, mit der Oese den Bodensatz wie einen flockigen Schleier als Ganzes hochzuziehen. Bei schwachem Schütteln zerfallen die Flöckchen nicht, sondern steigen zopfartig empor, und erst bei längerem kräftigem Schütteln wird die Bouillon zwar getrübt, aber in der trüben Flüssigkeit kann man noch deutlich feine Fäden erkennen. Im mikroskopischen Bild wurden dann stets lange, in sich verschlungene Ketten mit diplokokkenartigen Teilgliedern beobachtet. Die Kokken drücken sich scheinbar, werden fast scheibenförmig und sehen im Profil strichähnlich aus (Staketform). Manchmal sind sie von einer Hülle umgeben, die gelegentlich in einen breiten Schleimwall verquillt. Der Endkokkus ist besonders bei kleinen und kurzen Ketten kolbenartig angeschwollen, oft aber auch nur leicht verdickt. Zum charakteristschen Verhalten des Streptococcus agalactiae gehört noch ein anhaemolytisches Wachstum auf Hammelblutagar.

Charakteristik der Milchsäurestreptokokkenstämme

Die von mir geprüften Milchsäurestreptokokkenstämme waren durch folgende Eigenschaften ausgezeichnet: Auf der Saccharoseplatte bildete ein Teil der Stämme runde, flache, sehr zarte Kolonien, deren Rand glatt und ohne Ausläufer blieb. Diese Kolonien erschienen in der Aufsicht hellgrau und farblos, sie riefen keine Veränderungen der Grundfarbe des Nährbodens hervor. Diejenigen Stämme, die Saccharose angriffen, waren nur sehr schwer von den Galtstämmen mikroskopisch zu trennen.

Die Lackmusmilch entfärbte sich bei 37° innerhalb der ersten 24 Stunden bis auf einen kleinen Rest in Form eines kleinen, oberen rötlichen Randes; nach 24—48 Stunden trat Gerinnung ein. Nach 3 Tage langem Stehen erfolgte allgemeine Rötung, die von oben nach unten fortschritt. Die Methylenblaumilch war nach 24 Stunden entfärbt und nach 48 Stunden geronnen. Die Galle- Lackmus-Bouillon wies auch wieder einen Farbumschlag nach rot auf, aber nur 5 Stämme röteten die polytrope Bouillon nach Lange, während übereinstimmend mit den Angaben von Julatz (unveröffentlichte Mitteilungen) die anderen 5 Stämme bei gutem Wachstum die Farbe der Nährflüssigkeit unverändert ließen. Diernhofer (23) fand in der von ihm angegebenen Aeskulinbouillon, die 0,3% Natrium chloricum 0,2% Natrium phosphoricum und 0,1% Aeskulin Merck enthielt, bei sämtlichen von ihm geprüften Lacticusstämmen ein üppiges

Tabelle II

		Saccharose Spaltung	**Lackmusmilch** a) Rötung	b) Gerinnung	**Methylenblaumilch** a) Entfärbung	b) Gerinnung	Laktosebouillon Wachstum	Lackmusbouillon (Rötung)	Lange – Bouillon (Rötung)	Aeskulin + Spaltung
I (32 b_2)	Strept. agalac-tiae.	pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	pos.	pos.	pos.	neg.
2 (32 b_4)		pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	pos	pos.	pos.	neg.
3 (32 b_3)		pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	pos.	pos.	pos.	neg.
4 (N I)		pos.	pos.	pos.	neg	neg	pos.	pos.	pos.	neg.
5 (6^1)		pos.	pos	pos.	neg.	neg.	pos.	pos.	pos.	neg.
6 (6^2)		pos.	pos.	pos.	neg.	neg	pos	pos.	pos	neg.
7 (6 k^1)		pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	pos.	pos.	pos.	neg.
8		pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	pos.	pos.	pos.	neg.
22		pos.	pos.	pos.	neg.	neg.	pos.	pos.	pos	neg.
52		pos.	pos.	pos.	neg	neg.	pos.	pos.	pos.	neg.
41	Strept. lacti-cus.	neg.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.
42		neg.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.
43		neg.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.
44		pos.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.	pos
45		pos.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.	pos.
46		pos.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.
47		pos.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	neg.
48		pos.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	neg
49		pos.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos	neg.
50		pos.	neg.	pos.	pos.	pos.	pos.	pos	pos.	neg.

Wachstum. Dabei spalteten alle Stämme Aeskulin. Bei meinen Stämmen konnte ich nur an 5 Stämmen eine Aeskulinspaltung beobachten, während die übrigen 5 Stämme keine Spaltung, wohl aber gutes Wachstum zeigten. Die Laktosebouillon erwies sich nach 24 Stunden gleichmäßig getrübt. Erst später bildete sich ein geringer knopfförmiger Bodensatz und nach mehreren Tagen trat eine völlige Klärung des Bouillonröhrchens ein. Der Bodensatz hing dann lose zusammen und ließ sich leicht aufschütteln. Im mikroskopischen Bild fand ich lanzettförmig aussehende Kokken in kürzeren, meist starren, im Gegensatz zu Galt nicht so gewundenen Ketten. Kapseln und verickte Endglieder konnte ich nicht nachweisen. Auf Hammelblutagar sah ich gleichgroße runde Kolonien, die in der Aufsicht etwas schwärzlich erschienen. Kein einziger der geprüften zehn Stämme rief eine Haemolyse hervor.

In der Tabelle II habe ich das Verhalten der einzelnen Stämme nochmals übersichtlich zusammengefaßt.

Versuchsanordnung.

In Anlehnung an die Versuche Pfannenstiels (21) prüfte ich, welche Wirkungen der Alkaleszens- bzw. Säuregrad auf das Wachstum und die Erscheinungsform der Milchstreptokokken bei Züchtung in flüssigen Nährböden ausübt. Bei der Herstellung des alkalischen Nährsubstrats kam folgendes Verfahren zur Anwendung: Mit immer derselben Pipette habe ich einer Laktosebouillon 10%ige Natronlauge tropfenweise beigegeben. Durch Hinzufügen von 7 Tropfen Lauge hatte sich der P_H-Wert der Bouillon von 7,2 auf 8,5 verändert. Durch weitere tropfenweise Zugabe der Natronlauge konnte ich die Nährbouillon weit über einen P_H-Wert von 8,5 hinaus alkalinisieren.

Gallehaltige Nährböden besitzen bekanntlich für einige Streptokokkenarten, insbesondere Pneumokokken, Auflösungsvermögen. Gelingt es, diese Keime an Galle zu gewöhnen, so pflegen sie sich auch in andrer Hinsicht zu verändern. Großmann (28) beobachtete, daß ein anhaemolytischer Streptokokkenstamm nach Gewöhnung an Galle Aeskulinspaltungsvermögen erworben hatte. Da ich bei meinen Versuchen häufig nach mehreren Passagen in Galle-Lackmus-Milchzuckerbouillon ein abgeschwächtes Saccharosevergärungsvermögen sowie das Auftreten von geschädigten Ketten beobachten konnte, prüfte ich nun das Verhalten der Milchstreptokokken in gallehaltigen Nährböden genauer. Als Nährmedium verwandte ich sterile Galle, die ich anfänglich mit Laktosebouillon mischen mußte, um

Gewöhnung und gutes, kräftiges Wachstum zu erzielen. Da das wirksame Prinzip in der Ochsengalle vornehmlich die Taurocholsäure ist, so prüfte ich auch gleichzeitig noch das Verhalten der Streptokokken in einer Laktosebouillon, der ich 0,5% Natrium taurocholicum zugesetzt hatte. In diesen Nährböden ließ sich der Streptococcus agalactiae durch 4 Passagen, der Streptococcus lacticus dagegen durch 10 Passagen fortzüchten.

Für die Urinpassagen gebrauchte ich den gesammelten Harn einer männlichen Person, der unter Einhaltung aller Vorsichtsmaßnahmen steril aufgefangen wurde. Er hatte einen durchschnittlichen -Wert von 7,4. Um seine Sterilität zu sichern, wurde der Urin durch ein Seitzfilter mit Entkeimungsschicht filtriert, 3 Tage im Brutschrank stehen gelassen und dann auf Keimfreiheit geprüft. Die Züchtung der Milchstreptokokken erfolgte unter täglicher Ueberimpfung, wobei ich anfänglich mit Laktosebouillon mischen mußte, um ein länger anhaltendes Wachstum zu erzielen. So konnte ich mit Galtstreptokokkenstämmen in reinem Urin 3 Passagen, mit Stämmen des Streptococcus lacticus dgaegen 8 Passagen durchführen.

Die Versuche im anaeroben Milieu beschränkten sich nur auf 1 Passage und wurden in einem dem Knorr'schen Anaerostaten ähnlichen Vakuumgefäß vorgenommen. Im Gegensatz zu den vorigen Versuchen verwandte ich hierbei nur feste Nährböden, und zwar gebrauchte ich den von Klimmer, Haupt (10) und Roots angegebenen Saccharose-Serum-Albuminat-Bromkresolpurpur-Agar sowie 10%igen Hammelblutagar.

Angeregt durch die Arbeit von Bachrach und Cardot (27) prüfte ich das Verhalten der Milchstreptokokken bei erhöhter Züchtungstemperatur. Streptococcus lacticus bildet Ketten, wenn man ihn einer Temperatur von 40° aussetzt. Bei Erniedrigung der Züchtungstemperatur nehmen die Keime wieder die gewöhnliche Form an. Die Galt- und Milchsäurestreptokokken hielten eine Temperaturerhöhung auf 60° 15 Minuten lang sehr gut aus. Sie zeigten nach der Erhitzung in Laktosebouillon ein gutes Wachstum, morphologische und biologische Veränderungen konnte ich nicht feststellen.

Beeinflussung durch alkalische und saure Nährböden.

Nach den Passagen im alkalischen und sauren Milieu beobachtete ich bei allen Galtstreptokokkenstämmen folgendes: Das Wachstum war deutlich gehemmt, und zwar sowohl

in stark alkalischem Milieu (über 8,5 P_H) als auch in stark saurem Substrat (über 5,6 P_H). Die Laktosebouillon blieb klar, der Bodensatz hing ballenförmig zusammen. Im Präparat fand ich starre und kurze, oft aufgequollene Ketten von manchmal nur 2—5 Gliedern. Ungleichmäßig gefärbte, teilweise ganz aufgequollene Segmente wechselten mit normalen Kettengliedern ab. Das Wachstum hatte also unter diesen Bedingungen deutlich zu einer Schädigung der Galtstreptokokken und zur Bildung von Degenerationsformen im Sinne von Skar geführt. Eine Verunreinigung konnte ich mit Sicherheit ausschließen.

Es wurde nun geprüft, wieweit die durch diese Passagen herbeigeführten morphologischen Aenderungen auch im biologischen Verhalten zum Ausdruck kamen. Wurde nach den Passagen im alkalischen oder sauren Milieu die oben angeführte Reihe beimpft, so konnte ich jedesmal Veränderungen im biochemischen Verhalten feststellen. Lackmus- und Methylenblaumilch blieben unverändert. Lange- sowie Galle- Lackmus-Milchzuckerbouillon wurden nicht mehr gerötet. Beimpfte man aus diesen Röhrchen, in denen noch Wachstum zu beobachten war, sterile Milch, so trat erst nach der 2. Passage und später wieder Gerinnung ein.

Sämtliche Galtstämme verloren ihr Saccharosespaltungsvermögen, Wachstum war auf der Nährbodenplatte jedoch vorhanden. Ein Auftreten der Aeskulinspaltung konnte ich nicht nachweisen. Die Erhöhung der Thermo-Resistenz auf 1 Stunde, wie sie Braun (25) bei seinen Versuchen mit anderen Streptokokkenarten nachwies, konnte ich bei Galt-Streptokokken nicht beobachten.

Der P_H-Wert der alkalischen Nährbouillon, der anfänglich weit über 8,5 lag, war nach 24-stündiger Bebrütung mit Galtstreptokokken auf 7,4 gesunken, während die Wasserstoffionenkonzentration in den sauren Nährmedien in der gleichen Zeit nach Beimpfung mit den verwendeten Keimen nur von 5,6 auf 5,0 angestiegen war.

Auf die unter denselben Bedingungen geprüften Milchsäurestreptokokkenstämme übten dieselben Nährmedien keinen so starken Einfluß aus. Auch hier konnte ich ganz vereinzelt kurze, aufgequollene, ungleichmäßig gefärbte Ketten beobachten. Im biochemischen Verhalten traten jedoch keine Veränderungen ein. Lackmus- und Methylenblaumilch wurden weiß und kamen nach 24—48 Stunden zur Gerinnung. Allerdings verloren diejenigen Milchsäurestreptokokkenstämme

das Aeskulinspaltungsvermögen, die es vorher besessen hatten, während die Fähigkeit, Saccharose zu vergären, erhalten blieb. Die Thermo-Resistenz blieb unverändert. Bei der Prüfung stellte ich ein kräftiges Wachstum in Laktosebouillon fest. Auch nach der Erhitzung der Bouillon bis auf 60° zeigten alle Stämme kein verändertes biochemisches Verhalten. Der -Wert der alkalischen Nährbouillon, der ebenfalls weit über 8,5 lag, erreichte nach 24-stüdiger Bebrütung den Wert 8,0. Die Reaktion der sauren Nährböden blieb unverändert. Die beobachteten Veränderungen waren jedenfalls nicht so deutlich, daß ein verschiedenartiges Verhalten in stark sauren oder stark alkalischen Nährböden angenommen werden kann.

Tabelle III

Übersichtstabelle über den P_H-Wert der Bouillon.

	Ausgangswert: P_H	Nach 24-stündiger Beimpfung (End-P_H)
Streptococcus agalactiae :	alkal.: über 8,5	alkal.: 7,4
	sauer: 5,6	sauer: 5,0
Streptococcus lacticus :	alkal.: über 8,5	alkal.: 8,0
	sauer: 5,6	sauer: 5,6

Beeinflussung durch gallehaltige Nährmedien

Bei den Ueberimpfungen in gallehaltigen Nährböden sowie auch bei den Passagen in Laktosebouillon, der 0,25% Natrium taurocholicum zugesetzt war, erhielt ich dieselben Ergebnisse. In der Galle bildete sich bei den Galtstreptokokkenstämmen ein ballenförmig zusammenhängender Bodensatz, der

als Ganzes vom Boden aufzuschütteln war. Im mikroskopischen Präparat stellten sich nach mehrmaligen Ueberimpfungen schon sehr viel früher die beschriebenen Degenerationsformen ein, jedoch konnte ich eine vollkommene Auflösung der Ketten nicht nachweisen. Auch im biologischen Verhalten beobachtete ich wieder die schon geschilderten Veränderungen. Lackmus- und Methylenblaumilch zeigten nach den Passagen keinen Farbumschlag, ebenso blieben die übrigen flüssigen Kulturen unverändert. In jedem Falle erfolgte Wachstum.

Auf der Saccharoseplatte verloren sämtliche Galtstämme ihr Saccharosespaltungsvermögen. Das Wachstum der flachen, scharf begrenzten, farblosen Kolonien war gut und kräftig. Auf der 10%igen Hammelblutplatte zeigten die Galtkolonien vergrünendes Wachstum. Legte ich Kulturen in steriler Milch an, so konnte ich auch hier erst nach 2 Ueberimpfungen von Milch in Milch normale Ketten beobachten.

Das Aeskulinspaltungsvermögen war auch nach den Gallepassagen bei keinem Stamm nachzuweisen. Weiter stelite ich eine Abschwächung der Thermo-Resistenz fest. Nach der Erhitzung, durch die keine weitergehende morphologische und biologische Veränderung der Galtstreptokokken erfolgte, war in der Laktosebouillon nur ein sehr mäßiges Wachstum zu beobachten.

Bei den Milchsäurestreptokokken fand ich keine so ausgeprägten Veränderungen. Zwar konnte ich nach den Passagen mikroskopisch erheblich mehr Degenerationsformen nachweisen, aber es kamen auch unveränderte Ketten vor. Die Galle war diffus getrübt mit knopfartigem Bodensatz. Lackmus- und Methylenblaumilch wurden nicht mehr zur Gerinnung gebracht, aber noch reduziert.

Das Saccharosevergärungsvermögen ging den vergärenden Milchsäurestreptokokkenstämmen nicht verloren. Aeskulinspaltungsvermögen wurde von den Streptococcus lacticus-Stämmen auch nach Gallepassagen ebensowenig wie von den Galtstämmen erworben, vielmehr büßten die vorher Aeskulin spaltenden Stämme nach den Galle-Ueberimpfungen dieses Vermögen ein. Das Verhalten der Stämme nach der Thermo-Resistenzprüfung blieb unverändert.

Beeinflussung durch Wachstum im Urin.

Die stärksten und regelmäßigsten Veränderungen der morphologischen und biologischen Eigenschaften der geprüften Bakterien wurden bei der Züchtung im Urin gefunden. Nach

Abschluß der Urin-Ueberimpfungen fand ich bei Galtstreptokokken folgendes Verhalten: Der Urin war klar, der Bodensatz hing zwar noch ballenförmig zusammen, ließ sich aber sehr viel leichter zerschütteln. Im mikroskopischen Präparat fand ich einen Zelldetritus vor, der hauptsächlich von kurzen 2—5gliedrigen Ketten durchzogen war. Die einzelnen Kettenglieder erwiesen sich von verschiedener Größe und zeigten eine ungleichmäßige Aufnahme des Farbstoffes (Methylenblau nach Löffler). Einige Streptokokkensegmente waren intensiv dunkelblau, andere wiederum violett gefärbt, oft wurden auch nur kapselähnliche Gebilde beobachtet. Die Gliederung war teilweise sehr ungleichmäßig, häufig fanden sich auch ganz aufgequollene, vollkommen starr aussehende Ketten mit stark verdickten Endgliedern. Bei Fortzüchtung im Urin war deutlich eine immer weitergehende, schließlich vollständige Auflösung der Galtstämme festzustellen. Die Kokken lagen zunächst in Haufen zusammen, gingen dann aber zu Grunde. Eine Auflösung der Galtketten wurde besonders dann schnell erzielt, wenn die Kulturen sofort in reinem Urin angelegt wurden.

Auch biologisch war bei sämtlichen Stämmen ein verändertes Verhalten festzustellen. Lackmus- und Methylenblaumilch wurde weder gesäuert noch reduziert, ebenso ließen die polytrope Nährbouillon nach Lange und die Galle-Lackmus-Milchzuckerbouillon keine Rötung mehr erkennen. Wachstum war jedoch in jedem Falle wahrnehmbar, wenn auch teilweise nur ein sehr geringes. Im mikroskopischen Bild konnte ich dieselben kurzen, degenerierten und starren Ketten von 2—5 Gliedern, teilweise auch noch Haufenbildung beobachten. Brachte ich die so geschädigten Galtstreptokokkenstämme in sterile Milch, so kam diese nicht mehr zur Gerinnung. Wachstum konnte ich jedesmal feststellen. Erst nach 5 Passagen trat die Gerinnung wieder ein.

Ebenso hatten die Galtstämme das Vermögen, auf der Saccharose-Serum-Albuminat-Agar-Platte Saccharose zu spalten, eingebüßt. Das Wachstum war schlecht, die Kolonien klein und farblos. Beimpfte ich von den Platten sterile Milch als Kulturmedium, so blieb auch hier die Gerinnung nach 24 Stunden aus und trat erst nach mehreren Passagen wieder ein. Auf der Blutplatte beobachtete ich vergrünendes Wachstum.

Nach den Urinpassagen konnte ich bei keinem einzigen Galtstamm den Erwerb des Aeskulinspaltungsvermögens feststellen. Auch eine Erhöhung der Thermo-Resistenz konnte ich

nicht beobachten, im Gegenteil erwiesen sich die nach den Urinpassagen geschädigten Galtstreptokokken als sehr empfindlich, so daß es mir bei keinem Stamm gelungen ist, selbst nur eine Erhöhung auf 60° 15 Minuten lang, die sie vor den Urinpassagen sehr gut überstanden hatten, durchzuführen, ohne die Keime zum Absterben zu bringen.

Die Milchsäurestreptokokken wurden denselben Bedingungen ausgesetzt und zeigten nach Abschluß der Urinpassagen folgendes Verhalten: Der Harn war diffus getrübt, ein knopfförmiger, leicht aufzuschüttelnder Bodensatz war vorhanden. Im mikroskopischen Präparat fand ich ebenfalls kurze Ketten und auch Diploformen, die ähnliche Degenerationserscheinungen wie die oben beschriebenen Galtstämme aufwiesen. Gut und schlecht gefärbte Segmente, ungleichgroße und aufgequollene Glieder konnte ich auch hier unterscheiden. Häufig sah ich auch wieder Gebilde, die man als Kapseln hätte deuten können. Eine vollständige Auflösung konnte ich jedoch nicht feststellen.

Auch im biochemischen Verhalten beobachtete ich bei den so morphologisch veränderten Lacticusstreptokokken einige Abweichungen. Beimpfte ich nach den Urinpassagen die „bunte Reihe", so blieb die Lackmus- und Methylenblaumilch unverändert. Galle- Lackmus- Milchzuckerbouillon und auch die Nährbouillon nach Lange wurden nicht mehr gerötet. Jedoch war in jedem Falle Wachstum festzustellen. Auch hier ließ das mikroskopische Präparat degenerierte Ketten erkennen, die sich aber, wenn man Kulturen in steriler Milch anlegte, sehr viel schneller in normal aussehende Milchsäurestreptokokken umwandeln ließen.

Bei den Saccharose vergärenden Stämmen ging diese Fähigkeit nach den Urinbeimpfungen ebenfalls verloren. Bei keinem der Milchsäurestreptokokkenstämme war Aeskulinspaltung mehr nachzuweisen. Vielmehr hatten die vorher spaltenden Stämme dieses Vermögen eingebüßt. Eine Erhöhung der Thermo-Resistenz konnte ich ebenfalls nicht beobachten, hingegen war aber auch eine Abschwächung dieses Vermögens im Gegensatz zu den Galtstämmen nicht festzustellen. Nach dem Erhitzen der durch die Urinüberimpfungen geschädigten Stämme konnte ich keine weitergehenden Veränderungen beobachten.

Beeinflussung durch anaerobe Wachstumsbedingungen.

Die Züchtung unter anaeroben Verhältnissen führte zu keinen nennenswerten Veränderungen der Eigenschaften des Streptococcus agalactiae. Nach 24 Stunden war auf der Saccharoseplatte ein mäßig starkes Wachstum wahrnehmbar Die gelben Kolonien waren klein, flach und scharf begrenzt. Im mikroskopischen Präparat fand ich lange und kurze Ketten, vereinzelt konnte ich aber auch Degenerationsformen nachweisen. Auf der Hammelblutplatte wurde ein schwärzliches Wachstum der Kolonien beobachtet.

Auch im biochemischen Verhalten wies ich nach anaerober Bebrütung keine Veränderungen nach. Von der Hammelblutplatte beimpfte Lachmus- und Methylenblaumilch zeigte nach 24 Stunden die für die Galtstreptokokken charakteristische Reaktion. Die Lackmusmilch wurde rot und gerann, die Methylenblaumilch blieb unverändert. In den Präparaten fand ich lange, gewundene Galtstreptokokkenketten.

Die mit den Milchsäurestreptokokken angestellten Versuche zeigten unter anaeroben Bedingungen ebenfalls keine Veränderungen ihrer Eigenschaften. Auf der Saccharoseplatte blieb die Saccharosespaltung erhalten. Die Kolonien waren im Gegensatz zu Galt erhaben, scharf begrenzt und von hellgelber Farbe, der Farbstoff diffundierte nicht. Die nichtspaltenden Stämme wuchsen ohne Veränderung der Grundfarben des Nährbodens grau, die Kolonien waren rund und sehr zart. Auch auf der Hammelblutplatte beobachtete ich ein nicht von der Norm abweichendes Wachstum. Haemolyse trat nicht ein. Im Präparat waren keine Degenerationsformen nachzuweisen. Auch biochemische Veränderungen waren nicht festzustellen. Die geringe Beeinflussung der Streptokokkenstämme durch ein anaerobes Milieu scheint dafür zu sprechen, daß diese Kulturbedingungen weder hemmend noch schädigend auf ihre Erscheinungsform einzuwirken vermögen.

Das Ergebnis der bisher beschriebenen Variabilitätsversuche läßt sich dahingehend zusammenfassen, daß sowohl die Erreger der Euterentzündung wie die saprophytischen Milchsäurestreptokokken fast regelmäßig und meist gleichartig durch dieselben Kulturbedingungen beeinflußt werden. Ein direktes Uebergehen der einen Art in die andere konnte aber dabei nicht beobachtet werden. Es muß aber weiter dahingestellt bleiben, ob die durch die extremen Milieubedingungen hervorgerufenen

Endzustände beider Bakterienarten die im Sinne von Reimann als „Degradationsstufen“ imponieren dürften, eine und dieselbe Modifikation darstellen.

Dagegen spricht allerdings die Unbeständigkeit des Verhaltens dieser Formen. Insbesondere gelingt es leicht, durch Ueberimpfungen in Milch als Nährmedium d. h. also dem ihrem eigentlichen Standort gemäßen Milieu — die Streptokokkenarten, vorzüglich die Erreger des „gelben Galts“, wieder ihr chrarakteristisches biochemisches Verhalten zurückgewinnen zu lassen.

Wenn also aus den beschriebenen Versuchen eine gewisse verwandtschaftliche Beziehung hervorzugehen scheint, so bleiben doch bestimmte charakteristische Merkmale, die eine Differenzierung der beiden Kokkenarten aufrecht erhalten lassen. Hierzu gehört wahrscheinlich auch ein unterschiedliches Verhalten hinsichtlich ihrer antigenen Struktur, über die noch keine Untersuchungen zur Verfügung stehen. Auch bezüglich der Menschenpathogenität liegen Untersuchungen vor, die jedoch die Frage keineswegs geklärt haben. (H ö k l , 29 u. a.) Ich habe deshalb auch untersucht, inwieweit am Tierversuch der Streptococcus mastidis sich verschieden vom Milchsäurestreptokokkus verhält.

•

P r ü f u n g d e r T i e r p a t h o g e n i t ä t.

Die Tierpathogenität der oben beschriebenen zum Versuche verwandten Streptokokkenstämme prüfte ich in der von D o l d (26) bereits mit verschiedenen anderen Kokkenarten durchgeführten intrakutanen Technik. D o l d (26) hat über die Ergebnisse seiner systematischen vergleichenden Prüfung des gewebsbiologischen Verhaltens von 100 verschiedenen Streptokokkenstämmen in der Haut pigmentarmer Kaninchen berichtet. Er teilt die Streptokokken in drei Haupttypen ein:

Typus I: Streptokokken, die nur ein Erythem verursachen.

Typus II: Streptokokken, die eine starke Infiltration hervorrufen.

Typus III: Streptokokken, die lokal eine schnell auftretende und sich rasch ausbreitende Gewebsentzündung bewirken und in wenigen Tagen den Tod des Kaninchens herbeiführen.

In seiner Aufzählung fehlen Galt- und Milchsäurestreptokokken. Ihr Verhalten in der Kaninchenhaut prüfte ich nach denselben Versuchsbedingungen an 6 möglichst hautpigmentarmen Kaninchen, die auf der Bauchseite mechanisch enthaart wurden. Die Haut des Kaninchens ist sehr verschieden dick. Zur intrakutanen

Injektion wählte ich etwas dickere Hautstellen, da bei zu dünner Haut die Reaktionen nicht so deutlich hervortreten. Zu meinen Versuchen gebrauchte ich je 5 Galtstreptokokken- und Milchsäurestreptokokkenstämme. Als Kontrolle dienten mir ebensoviele haemolytische Streptokokkenstämme, die aus dem laufenden Material des Medizinal-Untersuchungsamtes stammten. Von einem Ascites-Schrägagarröhrchen stellte ich mir eine Aufschwemmung unter stets gleichen Bedingungen in physiologischer Kochsalzlösung her und spritzte je 0,1 ccm in die Haut ein. Die Anlegung der Quaddeln wurde so getroffen, daß bei jedem Kaninchen alle drei Streptokokkenarten im Abstand von drei cm zweimal nebeneinander bezw. untereinander intrakutan eingespritzt wurden. Die auftretenden Reaktionen wurden 14 Tage lang beobachtet.

Nach der Injektion des Streptococcus agalactiae trat nach 24 Stunden eine im Durchmesser ungefähr 1,5 cm große Rötung der Haut mit ziemlich starker Infiltration des Gewebes auf. Nach ungefähr drei Tagen bildete sich ein kleiner Abszeß, aus dem sich steriler Eiter entleerte. Nach mehreren Versuchen gelang es mir jedoch, vom Rand der Wunde nach Entleerung des Eiters in Laktosebouillon Galtstreptokokken aus den Abszessen zu züchten, die im mikroskopischen Bild allerdings nur sehr kurze Ketten zeigten. Der Abszeß heilte nach längerer Zeit bei allen Tieren aus.

Auch nach der Injektion von Milchsäurestreptokokken war eine schwache Rötung der Injektionsstelle wahrzunehmen, sie verschwand aber schon nach kurzer Zeit, nach 24 Stunden erschien die Injektionsstelle wieder völlig reaktionslos. Eine Infiltration des Gewebes oder eine Abszeßbildung war in keinem Falle zu beobachten.

Die zur Kontrolle jeden Tag gleichfalls injizierten haemolytischen Streptokokken verursachten die von Dold (26) beschriebene starke Gewerbsentzündung mit Eiterung und lokaler Nekrose. Die Entzündung verlief ziemlich schleichend, blieb lokalisiert und heilte nach drei Wochen aus.

Zusammenfassung.

Jedenfalls geht aus den beschriebenen Versuchen hervor, daß die aus der Milch euterkranker Kühe gezüchteten Streptokokken beim Kaninchen eine stärkere Gewebsvirulenz aufweisen, als die aus der Milch gesunder Tiere stammenden saprophytischen Milchsäurestreptokokkenstämme. Beide Arten stimmen aber weitgehend in der Beeinflussung ihres kul-

turellen Verhaltens durch Züchtung unter verschiedenen Umweltbedingungen überein. Es gelang fast regelmäßig, Galt- und Milchsäurestreptokokken in ihren morphologischen und biologischen Eigentümlichkeiten durch Umstellung der Lebensbedingungen abzuändern, wobei die stärksten Verschiedenheiten nach Züchtung im Urin beobachtet wurden. Die nach den verschiedenen Passagen gewonnenen Formen imponieren als Modifikationen, die einen Teil ihrer ursprünglichen Eigenschaften eingebüßt haben. Werden sie jedoch ihrem natürlichen Standort entsprechenden Wachstumsbedingungen ausgesetzt, so können sie diese Eigenschaften wiedergewinnen.

Die aus der Milch gesunder und an gelbem Galt erkrankter Kühe stammenden Streptokokken verhalten sich also in mancher Beziehung anders als die aus Stuhl- und aus eitrigen Prozessen herausgezüchteten Kokkenarten, deren Variabilität bei Züchtung in verschiedenen Medien durch die Untersuchungen von Pfannenstiel (24), Großmann (28), Gundel (20), Buchholz, Braun (25) u. a. beschrieben worden sind. Während in diesen Versuchen durch Züchtung in Urin Milchsäurestreptokokken, haemolytische Streptokokken u. a. ein Aeskulinspaltungsvermögen erwarben, konnte ich in keinem Falle eine solche Veränderung bei den von mir geprüften aus Milch gewonnenen Streptokokken beobachten. Auch eine Erhöhung der Thermo-Resistenz konnte ich nicht nachweisen. Die Galtstreptokokken neigten vielmehr dazu, gegen Hitzeeinwirkungen labiler zu werden. Während die von Braun (25) untersuchten Streptokokkenstämme ihre Fähigkeit, auf der Hammelblutplatte vergrünend zu wachsen, nach Wachstum im Urin verloren, konnte ich bei meinen Galtstreptokokkenstämmen gerade nach den Passagen in Urin vergrünendes Wachstum feststellen.

Die Frage der Tier- und Menschenpathogenität des Streptococcus agalactiae bedarf noch der weiteren Klärung. Nach den bisherigen Ergebnissen scheint der Mensch immun gegen eine Infektion mit Streptococcusagalactiae zu sein. Die Pathogenität dieser Streptokokkenart ist — ähnlich derjenigen der Gonokokken, Pneumokokken und Meningokokken — an ihren Standort gebunden, wo sie schwere atrophische Veränderungen hervorrufen kann. Häufig beobachtet man nur leichte Entzündungserscheinungen des Kuheuters. Es ist sehr fraglich, ob die Erreger dieser Formen von Mastidien eine Menschenpathogenität besitzen. Hökl (29) u. a. vertreten die Meinung, daß die Möglichkeit, durch Galt- und ihm verwandte Stämme chronische Erkrankungen beim Menschen hervorzurufen, noch nicht mit

Sicherheit auszuschließen sei, zumindest bliebe die Frage offen, ob diese Stämme vielleicht sekundär beteiligt sein könnten.

Wie meine Untersuchungen gezeigt haben, ist die Möglichkeit einer Umwandlung unter verschiedenen Standorts- und Umweltsbedingungen auch bei den Galt- und Milchsäurestrptokokken bis zu einem gewissen Grade gegeben. Für die bakteriologische Diagnostik ist diese Möglichkeit von größter Bedeutung, zumal es nicht ausgeschlossen ist, daß Galtstreptokokken und verwandte Formen auch für den Menschen irgendwie gefährlich sein können. Wir kennen jedoch augenblicklich noch nicht die hierfür notwendig zusammentreffenden Vorbedingungen.

Schlußsätze.

1. Es gelingt fast regelmäßig, Galt- und Milchsäurestreptokokken unter extremen Wachstumsbedingungen in ihrem morphologischen und biologischen Verhalten zu beeinflussen.
2. Die stärksten Veränderungen beobachtete ich bei Züchtung in Urin und gallehaltigen Nährböden, während ein verschieden starker Säure- bzw. Alkaleszensgrad der Nährbouillon sowie anaerobe Wachstumsbedingungen keine bleibenden Veränderungen der Stämme hervorzurufen vermögen. Sie üben eher einen das Wachstum h e m m e n d e n Einfluß aus.
3. Das veränderte biochemische Verhalten kam in der Unfähigkeit, H e i m ' sche Lackmusmilch, die polytrope Nährbouillon nach L a n g e und Galle - Lackmus - Milchzuckerbouillon zu verändern, zum Ausdruck. Die Fähigkeit, Saccharose zu spalten, ging verloren. Nach Wachstum in Urin und gallehaltigen Nährböden zeigten nach mehreren Passagen die Galtstreptokokken ein vergrünendes Wachstum auf Hammelblutagar. In k e i n e m Falle wurde von den unter verschiedenen Bedingungen geprüften Galt- und Milchsäurestreptokokkenstämmen die Fähigkeit, Aeskulin zu spalten, erworben. Diejenigen Milchsäurestreptokokkenstämme, welche sich durch das Aeskulinspaltungsvermögen auszeichneten, büßten diese Fähigkeit regelmäßig nach Züchtung unter stark veränderten Umweltsbedingungen ein.
4. Die beschriebenen Zustandsveränderungen erwiesen sich als sehr labil. Es gelang bei sämtlichen geprüften Kulturen, durch Züchtung der veränderten Kokkenstämme in sterilisierter Milch nach 2—5 Passagen alle ursprünglichen Eigenschaften wiederzugewinnen.
5. Nach ihrem gewebsbiologischen Verhalten in der Kaninchen-

haut sind die Mastitisstreptokokkenstämme zwischen die gänzlich indifferenten Milchsäurestreptokokken und die eine lokale Gewebsnekrose verursachenden Steptokokken einzureihen.

Literaturverzeichnis.

1. Grenz: Die wirtschaftliche Bedeutung der durch Streptokokken hervorgerufenen Euterentzündungen des Rindes. (Milchwirtschaftl. Forschungen 1930 Bd. XI.)
2. Ernst: Milchstreptokokken und Streptokokken mastidis. (Monatsheft für praktische Tierheilkunde, Bd. 20, 21 u. 52.)
3. Zschokke: Forschungen über den gelben Galt. (Schweizer Archiv f. Tierheilkunde, 1904.)
4. Rudolf: Ueber das Verhalten verschiedener Streptokokken in der Lackmusmilch unter besonderer Berücksichtigung des Str. mastidis und Str. lactis. (Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. I Orig. Bd. 98 u. 100.)
5. Kitt: Bakterienkunde und pathologische Mikroskopie. (5. Aufl. 1908.)
6. Löhnis: Versuch einer Gruppierung der Milchsäurebakterien. (Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. II, Bd. 28.)
7. Gminder: Untersuchungen über Mastidisstreptokokken und ihre Differenzierung von saprophytischen Streptokokken. (Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. I, Orig. Bd. 63.)
8. Hammer: Variations of Streptococcus lactis. (Zitiert nach Milchwirtschaftl. Forschung, Bd. X, Heft 3/4, S. 64.)
9. Meylbo: Typeinddeling af Mastitisstreptococcor fra Kvaeg efter deres Forgaeringsforhold. (Meddels fra de Kgl. Veter. og Landbohojskoles Aarsskr. 1924, S. 260, — zit. nach I.)
10. Klimmer u. Haupt: Beitrag zur Trennung verschiedener tierpathogener u. saprophytischer Streptokokken. (Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. I, Orig. Bd. 100.)

10a. Klimmer: Trennung einiger in der Milch vorkommender Streptokokken. (Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. I, Orig. Bd. 107.)

— Ergebnisse der Hygiene, Bakteriologie und Immunitätsforschungen und experimentellen Therapie, Bd. II, 1930.

11. Schlesinger: Journal of infect. dis. 1913. (Zit. nach Hammerschmidt, Zentralbl. f. d. gesamte Hygiene, Bd. 5, 1924.)
12. Frost u. Amer. Journ. of publ. health 13 1913,
13. Bachmann: zitiert nach XI.
14. Baumann: Münch. Med. Wochenschrift, 1906.
15. Laabs: Zeitschrift für Veterinärkunde, Jahrg. 22, 1910.
16. Steck: Ueber die Eutercorynebakterien und ihre Beziehungen zu den Euterstreptokokken. (Centralbl. f. Bakteriol., Abt. I, Orig. Bd. 124.)
17. Bujwid: Centralbl. f. Bakteriol. II Ref. Bd. 76.)
18. Hüttig: Ueber die Entstehung von Milchsäurestreptokokken aus Bakterien der Coli-Gruppe und Herbicola. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. II, 84, 231.)
19. Demeter: Studien über Milchsäurestreptokokken. (Milchwirtschaftl. Forschungen, Bd. 18, 1929.)
20. Gundel: Die Enterokokken. (Centralbl. f. Bakteriologie, Abt. I, Orig. Bd. 109 u. Bd. 99, Abt. I.)
21. v. Sande: Die Veränderungen der Lackmusmilch durch Streptokokken. (Deutsche tierärztliche Wochenschrift, 1927, Jahrg. 35, 217.)

22. Bischoff: Zur Frage der Trennung verschiedener tier- und menschenpathogener Streptokokken von dem Str. mastidis und dem Str. lactis. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I, Orig. Bd. 117.)
— Ein Beitrag zur Yatrentherapie des Str. mastidis. (Deutsche tierärztl. Wochenschrift 38, S. 290, 1930.)
23. Diernhofer: Untersuchungen über die Streptokokken mastidis der Rinder mit besonderer Berücksichtigung der sanitären Bedeutung. (Archiv f. Tierheilkunde Bd. 61, 1930.)
— Aeskulinbouillon als Hilfsmittel zur Differenzierung der Euter- und Milchstreptokokken bei Wasseruntersuchungen. (Milchwirtschaftl. Forschungen 1932, S. 318.)
24. Pfannenstiel u. Eichhoff: W. Bruns, Beitrag 151, 171 — 1931.
25. Braun: Veränderungen von Streptokokken in verschiedenen Nährmedien. (Inaug. Dissert. Marburg 1933.)
26. Dold: Das Verhalten der wichtigsten anaeroben menschenpathogenen Bakterien in der Haut des Kaninchens. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I, Orig., Bd. 102.)
27. Bachrach u. Cardot: Modifications du Bazille lactique sous l'influence du milieu. (Zit. nach milchwirtschaftl. Forsch. Refer., Bd. 4, 1927.)
28. Grossmann: Zur Bedeutung und Biologie der Enterokokken. (Centralbl. f. Bakteriol. Abt. I, Orig. Bd. 110, Beiheft S. 241, 1929.)
29. Hökl: Archiv für Hygiene 1932.
30. Asshoff: Untersuchungen über biologische Eigenarten verschiedener Streptokokkenarten. (Inaug. Dissert. Münster 1932.)

LEBENSLAUF.

Am 23. Oktober 1908 wurde ich, Hermann Urbahn, als Sohn des Augenarztes Dr. Hermann Urbahn und seiner Ehefrau Anna geb. Henning in Köln-Nippes geboren. 1912 verlegte mein Vater seinen Wohnsitz von Köln nach Lünen i. Westf. Hier besuchte ich bis zu meinem 9. Lebensjahre die Volksschule, trat dann in die Sexta des Realgymnasiums ein und bestand hier 1927 die Reifeprüfung.

Meine vorklinischen Semester verbrachte ich an der Universität zu Würzburg, woselbst ich am 26. Juli 1929 meine ärztliche Vorprüfung bestand. Die klinischen Studien habe ich im W. S. 1929/30 in Freiburg begonnen, in Kiel und Marburg fortgesetzt und hier beendet. Am 26. Januar 1933 habe ich in Marburg die ärztliche Prüfung bestanden.

Meine akademischen Lehrer waren:

in Würzburg:

Ackermann, Burgeff, Dimroth, von Frey, Petersen, Redenz, Schriewer, Schleip, Wagner, Wetzel.

in Freiburg:

Aschoff, Eppinger, Mobitz, Nieden, Schürmeyer.

in Kiel:

Anschütz, Beck, Dold, Jores, Kültz, Lindemann, Schellong, Schittenhelm, Schulz, Seiffet, Wanke.

in Marburg:

Baur, Boeminghaus, Eimer, Enke, Freudenberg, Göppert, Grüter, Gürber, Hildebrand, Kehrer, Klapp, Klewitz, Kretschmer, Naujoks, Neumann, Pfannenstiel, Ruete, Schubert, Schwenkenbecher, Uffenorde, Versé, Wiedhopf.

Zum Schlusse meiner Arbeit spreche ich Herrn Professor Dr. W. Pfannenstiel für die Anregung zu den vorliegenden Untersuchungen und Herrn Dr. Jusatz für die wertvolle Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit meinen aufrichtigen Dank aus.